

O uso de caixas excito-repelentes com *Anopheles darlingi* Root, *A. nuneztovari* Gabaldon e *Culex pipiens quinquefasciatus* Say obtidos em áreas perto de Manaus, Amazonas

J. Derek Charlwood (*)

Norivai D. Paraluppi (*)

Resumo

Caixas contendo DDT foram usadas para realizar testes de excito-repelência em populações de *Anopheles darlingi*, *A. nuneztovari* e *Culex pipiens quinquefasciatus* nas proximidades da cidade de Manaus, Amazonas. As duas espécies de anofelinos mostraram uma fuga rápida do DDT, enquanto que a população de *Culex* apresentou uma alta resistência, sendo pouco influenciada pela presença do inseticida. Foram usadas também caixas como armadilhas de repouso para os *Culex*, e neste caso houve pouca diferença entre a caixa com DDT e a de controle. Discute-se a necessidade de padronizar testes de excito-repelência para elucidar o conceito desta resistência comportamental.

INTRODUÇÃO

O uso do DDT como um agente efetivo contra os mosquitos vetores de doenças tem sido influenciado pelo desenvolvimento de uma resistência da população exposta ao inseticida, e por respostas comportamentais do inseto, que tendem a reduzir seu contato com o inseticida (Schoof, 1970). O DDT produz um efeito irritante, notável na maioria dos mosquitos. Isto os obriga a voar para longe da superfície borrifada, antes que absorvam uma dose tóxica do mesmo. O efeito irritante se manifesta não somente no contato com a superfície borrifada, mas também produz um efeito repelente nos mosquitos (WHO 1975). Em geral, as populações susceptíveis são mais irritáveis pelo DDT do que as populações resistentes. O estado fisiológico da fêmea provavelmente também causa uma resposta individual. Em geral, os mosquitos não alimentados são mais irritáveis pelo DDT do que os mosquitos alimentados (WHO 1975).

Se uma população de mosquitos susceptível é altamente irritada ou repelida por DDT,

existe a possibilidade de haver o desenvolvimento de uma resistência comportamental. Isto foi definido como a "habilidade dos insetos, através de hábitos protetores ou comportamentais, de evitar contato letal com um tóxico" (Hess, 1952, *apud* Perry & Agosin, 1974). Em laboratório, tal resistência comportamental foi demonstrada por Gerold & Laarman (1967) que selecionaram *Anopheles atropavus* por 32 gerações, com base em seu comportamento de escape dos compartimentos com DDT. Eles descobriram que a irritação pelo DDT acarretava um aumento na atividade do vôo, mas a habilidade de escapar, em si, era um componente separado do comportamento. No campo, entretanto, tal fenômeno ainda não foi claramente demonstrado. Supõe-se que geralmente o aumento da exofilia no mosquito seja o resultado de um efeito seletivo do tóxico (Hammon *et al.*, 1970).

Observações preliminares (Hayes & Charlwood 1977) indicam que o *Anopheles darlingi* Root, o vetor da malária nesta região, tende a evitar as superfícies borrifadas com DDT.

Este trabalho relata os resultados de testes usando uma caixa de excito-repelência, fornecendo dados quantitativos para *A. darlingi*, *A. nuneztovari* Gabaldon e *Culex pipiens quinquefasciatus* Say (= *fatigans*). Descreve-se também o uso de tais caixas-testes como armadilhas de repouso para *C.p. quinquefasciatus*.

MÉTODOS

As caixas-testes foram semelhantes às aquelas usadas por Rachou *et al.* (1973). As caixas são de 50 cm de cada lado, e foram feitas de madeira compensada de 15mm de espessura. Elas têm duas aberturas: uma na parte su-

(*) — Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus.

perior e outra em uma dos lados. Estas podiam ser fechadas através de uma armadilha escorregadiça de fuga. Esta armadilha é uma gaiola telada, tendo um dos lados com 30 cm. Um dos lados foi convertido em funil de compensado (Fig. 1). Os lados internos e o topo interno das caixas foram revestidos com papel filtro branco. O chão não foi revestido, uma vez que se sabe bem que os mosquitos, e em particular os Anofelinos, normalmente não repousam no fundo de gaiolas, ou seja, em superficies horizontais (Rachou *et al.*, 1973). Uma série de papéis foi borrifada por um funcionário da SUCAM, numa proporção de aproximadamente 2 gramas de DDT em pó umedecível por metro quadrado. Esta concentração é a mesma usada nos locais da campanha de borrifação de casas. A caixa revestida com o papel borrifado serviu como controle. O processo para cada teste foi o seguinte: um número conhecido de mosquitos foi suavemente soprado para dentro de cada caixa, através de aspiradores. O número de insetos usados para cada teste foi determinado pela disponibilidade dos mesmos. Foram usados 30 em cada caixa nos testes usando *A. nuneztovari* e 50 ou 60 por caixa para cada teste com *C.p. quinquefasciatus*. Nos 5 testes com *A. darlingi*, dois tinham 70, dois tinham 45, em cada caixa. Devido à escassez de mosquitos no último teste, foram usados 33 no controle, e no teste 46. As caixas foram mantidas na sombra, e o nível de umidade foi mantido alto dentro das caixas, usando-se um chumaço de lã de algodão colocado no chão de cada uma antes de começar o teste. Todos os testes tiveram lugar na mesma hora do dia (entre 10 e 12 horas da manhã), e durante os testes a temperatura foi de aproximadamente 27°C, e a umidade relativa foi de 70-80%.

Depois de um período de aclimação de 5 minutos, os insetos que tinham voado para dentro da armadilha de fuga foram coletados e contados. Os mosquitos não alimentados foram testados por 2 horas. Os *C.p. quinquefasciatus* alimentados com açúcar e os alimentados com sangue foram testados por 1 hora somente. No final do teste, o número de mosquitos sobreviventes que ficou dentro das caixas foi marcado.

As fêmeas dos Anofelinos não alimentadas foram coletadas na noite anterior. Elas foram usadas nos testes, uma vez que se constituíam no material disponível.

Os *C. p. quinquefasciatus* capturados enquanto repousavam dentro das casas, foram alimentados com sangue antes dos testes. Os *C. p. quinquefasciatus* alimentados com açúcar e os não alimentados foram criados em laboratório. Quando foram testados, eram multiparos e com 3 a 7 dias de idade.

Quando usadas como armadilhas de repouso, as caixas foram colocadas numa casa, onde a população local de mosquitos *Culex* era alta. As aberturas das caixas foram expostas, afastando-se as gaiolas de topo para um dos lados, através de um deslizador, e somente foram fechadas por ocasião da remoção dos mosquitos. Os mosquitos que já estavam na armadilha de fuga do lado, foram coletados e considerados como sendo "fora"; os mosquitos que ficaram foram estimulados a voar para dentro das armadilhas de fuga, fazendo-se um leve distúrbio nas paredes da caixa. Estes foram coletados e considerados como "dentro". Quando mais nenhum mosquito voou para dentro das armadilhas, a armadilha de topo foi removida, e os interiores das caixas foram examinados para verificar se havia mais algum mosquito. Se algum tivesse ficado, teria sido contado e removido com um aspirador.

Foi evidente no começo a possibilidade de que a posição das caixas influenciaria a intensidade da captura. Portanto, todo dia as posições relativas das caixas foram invertidas, e os resultados obtidos foram tidos como pares diários, para que o efeito da posição fosse reduzido.

Foram feitos testes de susceptibilidade ao DDT usando o teste padrão da OMS para mosquitos adultos.

RESULTADOS

Os resultados para as duas espécies anofelinos são apresentados na Tabela 1 e no Gráfico 1. Foram feitos 14 testes, usando um total de 832 *A. nuneztovari* e 5 testes usando 539 *A. darlingi*. Pode-se notar que ambas as espécies evitam as superficies borrifadas com DDT,

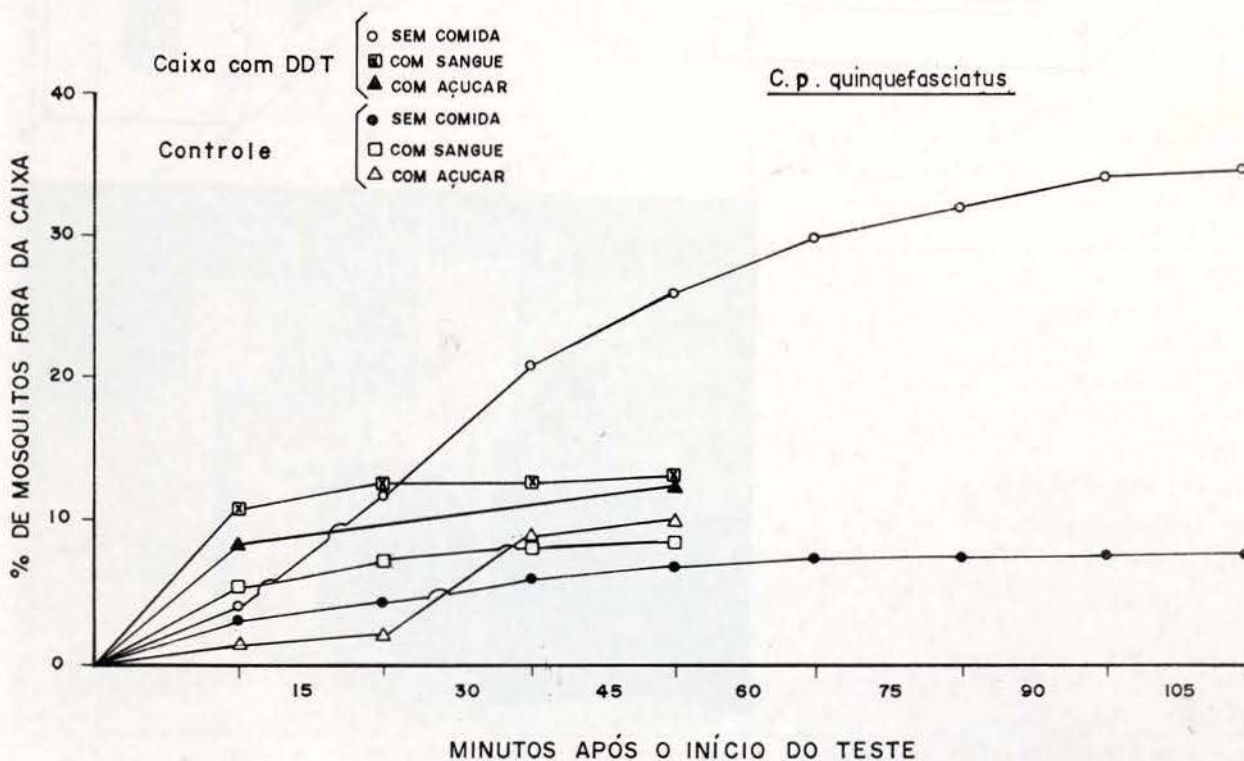
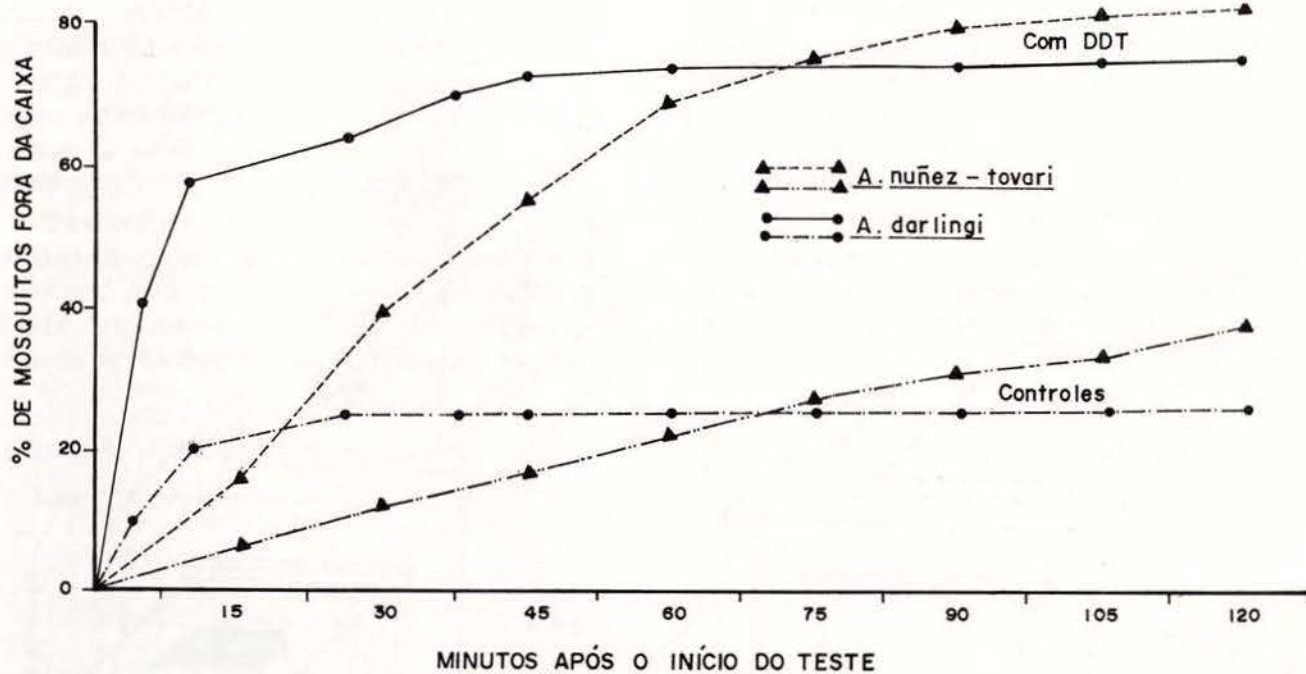


Gráfico 1 — Curvas representativas da porcentagem de mosquitos que saíram das caixas

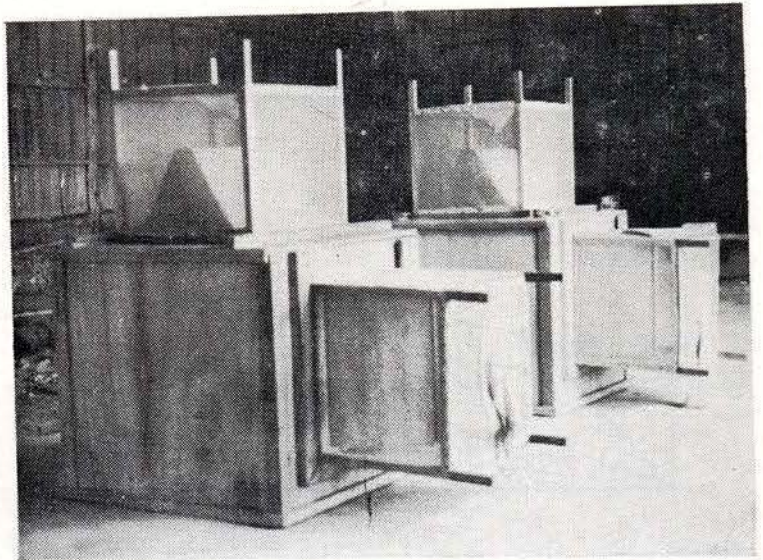
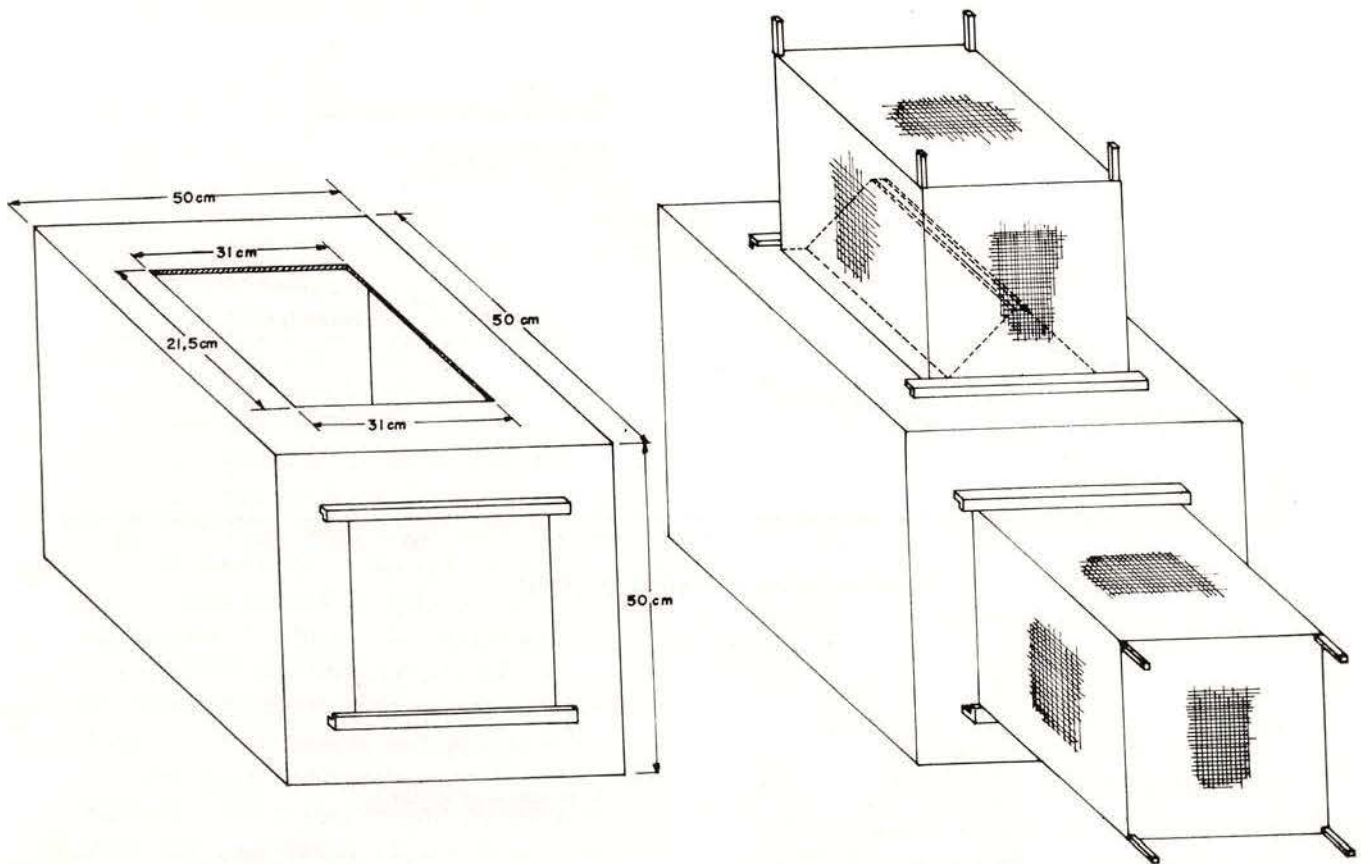


Fig. 1 — Esquema das caixas usadas nos testes e a posição das mesmas durante o decorrer dos experimentos

mas que esta resposta foi mais pronunciada nos primeiros 15 minutos de cada teste, no que diz respeito ao *A. darlingi*, ao passo que a resposta foi mais gradual no *A. nuneztovari* testado. Não houve uma diferença significativa entre a percentagem de *A. nuneztovari* que escapou da caixa teste entre o 1º e o último teste.

Descobriu-se que a população de *A. darlingi* testada é susceptível ao DDT, usando equipamento para testes de susceptibilidade da OMS. Isto foi reforçado pelo fato de que todos os *A. darlingi* que não escaparam da caixa

de DDT foram encontrados mortos, duas horas após o início do teste. Uma limitação no número de *A. nuneztovari* impediu o uso do equipamento para esta espécie. Porém, o mosquito nesta região não entra em contato com o inseticida, pelo fato de que ele não penetra em casas, e também de que não há borrifação na agricultura nesta região. Entretanto, é improvável que seja resistente ao DDT.

A população local do *C. p. quinquefasciatus* é, portanto, muito resistente ao DDT. Quinze fêmeas foram observadas em 3 ocasiões, por 18 horas, em contato constante com 4% de

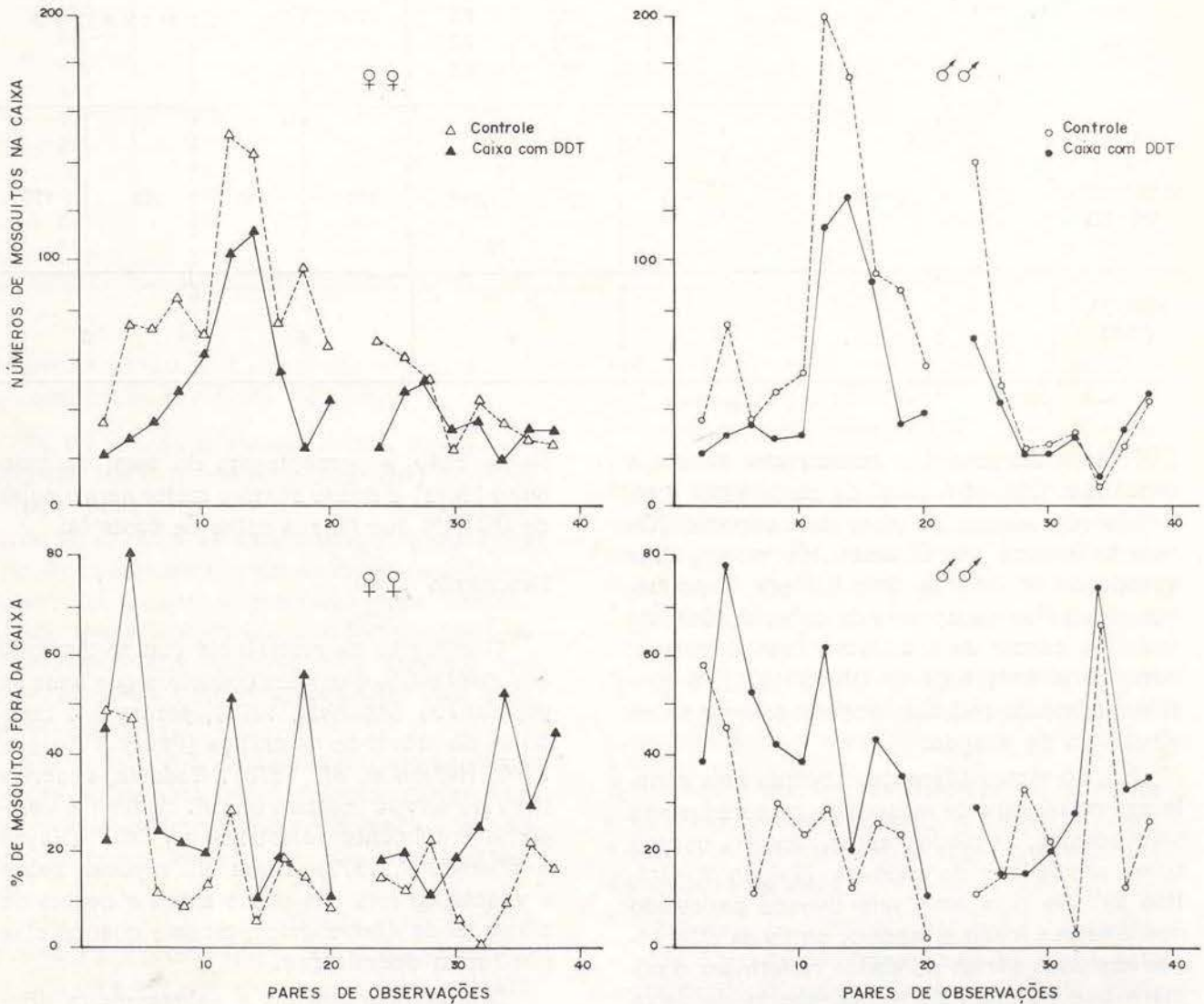


Gráfico II — Total de *C. p. quinquefasciatus* coletada nas armadilhas de repouso (pares de observações) e a percentagem "FORA"

TABELA 1 — Resultados dos Testes de Excito-Repelencia

Tempo em minutos	Porcentagem de mosquitos que deixaram as caixas									
	Anopheles darlingi		A. nuneztovari		Culex pipiens quinquefasciatus					
					sem comida		com sangue		com açúcar	
	DDT	controle	DDT	controle	DDT	controle	DDT	controle	DDT	controle
5	41,6	8,0								
10	57,8	19,0								
15	—	—	15,9	7,5	4,1	2,7	10,7	4,3	2,0	8,0
30	62,9	22,3	39,7	13,7	11,8	4,5	12,0	5,7	2,0	8,0
45			55,8	18,5	21,4	5,8	12,0	7,3	8,0	8,0
60	72,1	23,9	68,5	23,5	25,9	6,8	13,3	7,3	10,0	12,0
75			75,2	27,2	29,9	7,2				
90	72,1	23,9	80,0	31,5	32,2	7,7	TESTES TERMINADOS			
105			82,0	34,8	34,4	7,7				
120	72,1	23,9	83,2	38,0	36,2	8,1				
TOTAL Nº DE MOSQUITOS USADO	276	263	416	416	220	220	230	230	150	150
REPLICAÇÕES	5		14		4		5		3	

DDT, e nenhuma delas morreu nas 24 horas seguintes. Este alto nível de resistência é refletido nos resultados para esta espécie (Tabela 1, Gráfico 1). O inseticida mostra uma quantidade mínima de irritabilidade, com menos mosquitos escapando da caixa de DDT do que nas caixas de controle. Esta diferença, como se poderia esperar (WHO 1975), é consideravelmente reduzida quando os insetos se alimentam de sangue.

Há, portanto, diferenças ligeiras mas constantes no número de mosquitos capturados nas caixas-testes, quando estas foram usadas como armadilhas de repouso (Tabela 2, Gráfico 2). Se o número que tivesse penetrado nas 2 caixas fosse o mesmo, então as diferenças nas duas séries de dados refletiriam o número que escapou da tampa aberta da caixa de DDT. Esta tendência de escapar é refletida na porcentagem do total de capturas feitas na armadilha de fuga, situada no lado da caixa.

Neste caso, a porcentagem do total de mosquito "fora" é quase sempre maior para a caixa de DDT do que para a caixa de controle.

DISCUSSÃO

O conceito de resistência comportamental aos inseticidas é um dos conceitos que mais se popularizou (Agarwai, 1978), porém é o mais difícil de provar-se na prática (Peery & Agosin, 1974; Hamon *et al.*, 1970). Todavia, observações no campo indicam que *A. darlingi* é comportamentalmente resistente ao DDT (Hayes & Charlwood, 1977) e que ele repousa sobre a vegetação fora das casas antes e depois de alimentar-se dentro delas, mesmo quando elas não foram dedetizadas.

Este comportamento é sobremaneira diferente do observado por Shannon (1933), que coletou "uma população diurna de *A. darlingi* que repousava dentro das casas" e, pode-se

TABELA 2 — Total de números *C. p. quinquefasciatus* coletado nas armadilhas de repouso; pares de observações

MACHOS				FÊMEAS			
Caixa com DDT		Controle		Caixa com DDT		Controle	
Total coletado	% fora	Total coletado	% fora	Total coletado	% fora	Total coletado	% fora
21	38	36	58	22	45	35	49
28	79	74	45	26	81	76	47
33	52	36	11	36	24	72	11
27	41	47	30	49	22	85	8
29	38	52	23	62	19	70	13
114	61	201	28	102	51	152	29
127	20	175	12	113	8	142	6
94	43	94	26	76	18	74	19
31	35	89	24	25	56	97	15
36	11	58	3	41	10	65	9
—	—	—	—	—	—	—	—
69	29	140	11	23	17	66	15
41	15	47	15	48	19	60	13
22	14	24	33	52	10	52	23
21	19	26	23	32	19	21	5
30	27	30	3	38	24	42	0
11	73	9	67	20	52	33	9
34	32	26	12	35	29	28	21
44	55	42	26	32	44	25	16

deduzir então que tenha ocorrido uma mudança no comportamento deste mosquito.

Se de fato a resistência existe, então uma resposta mais intensificada ao DDT deveria ter sido antecipada. Portanto, a resposta rápida do *A. darlingi* às caixas-testes, comparada a do *A. nuneztovari*, e ao fisiologicamente resistente *C. p. quinquefasciatus* pode ser um reflexo desta resistência comportamental. A porcentagem que escapou pode também ser uma função da irritabilidade básica das diferentes espécies.

Portanto, a fim de se obter maiores informações sobre este fator, são necessárias três coisas que diferenciam as linhagens comportamentalmente resistentes das não-resistentes:

- 1 — Papéis com uma quantidade exata de DDT deveriam ser produzidos e utilizados de tal forma que uma série graduada de testes pudesse ser feita;
- 2 — Testes excito-repelentes precisariam ser padronizados, como são os testes fisiológicos

(WHO 1975); a porcentagem de mosquitos que escapa nos primeiros 15 minutos nas diferentes concentrações de DDT seria um teste tão efetivo como qualquer outro. Se a porcentagem que escapa das caixas é maior nas concentrações mais altas de DDT pode ser possível de se definir resistências comportamentais. Isto é quando uma grande porcentagem (diferença significativa) escapa das caixas de testes nas concentrações mais baixas do que nesta que vai dar um CL 50 (conto letal 50), usando o teste normal da OMS para ver a susceptibilidade aos inseticidas;

3 — Finalmente, em se tratando de mosquito criado em laboratório, seria necessário determinar se a resposta existe como um resultado de seleção ou não.

Em uma área como esta, onde a resistência do parasita às drogas anti-maláricas está se tornando difundida (Ferraroni & Waki, 1977; Bruce-Chawatt, 1970), a possibilidade de uma "resistência comportamental" pode acarretar graves ocorrências.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à SUCAM pela colaboração prestada no decorrer deste trabalho. — Durante este mesmo trabalho, Norival D. Paraluppi recebeu bolsa de estudos do Conselho Nacional de Pesquisas.

— Agradecemos à Sra. Maria Regina Filgueiras dos Reis pela tradução e também ao Dr. Jorge Arias pelas críticas construtivas.

SUMMARY

Excito-repellancy boxes were used to test the effect of DDT on populations of *Anopheles darlingi*, *A. nuneztovari* and *Culex pipiens quinquefasciatus* from in and around the city of Manaus, Amazonas. The two Anopheline species showed marked escape responses whereas the very resistant *Culex* population was little affected. The test boxes were also used as resting traps for *C. P. quinquefasciatus* and in this case slight differences 'between 'the DDT' sprayed box and an unsprayed control were evident. The need to standardize excito-repellancy testes' in order to clarify the concept of behavioural resistance is discussed.

BIBLIOGRAFIA CITADA

AGARWALL, A.

1978 — Malaria makes a comeback. **New Scientist**, 77(1088): 274-277. ,

BRUCE-CHWATT, L. J.

1970 — Global review of malaria control and eradication by attack on the vector. **Misc. pub. ent. soc. ameri.**, 7: 7-24.

FERRARONI, J. J. & WAKI, S.

1977 — Resistência do *Plasmodium* às Chloroquinas no Estado do Amazonas, detectada pelo método *in vitro*. **Acta Amazonica**, 7(1): 147-148.

GEROLD, J. L. & LAARMAN, J. J.

1967 — Behavioural responses to contact with DDT in *Anopheles atroparvus* **Nature**, 215: 518-520.

HAMON, J.; MOUCHET, J.; BRENQUES, J. & CHAUVET, G.

1970 — Vector ecology and behaviour before, during and after application of control measures. **Misc. pub. ent. soc. Amer.**, 7: 28-41.

HAYES, J. & CHARLWOOD, J. D.

1977 — O *Anopheles darlingi* evita DDT numa área de malária resistente a drogas. **Acta Amazonica**, 7(2): 289.

HESS, A. D.

1952 — **Amer. J. Trop. Med. Hyg.**, 1: 371.

PERRY, A. S. & AGOSIN, A.

1974 — The Physiology of insecticide resistance by insects. In: **The Physiology of the insecta**. — Rockstein, Morris, ed. Academic press. v. 6, p. 3-102.

RACHOU, R. G.; SCHINAZI, L. A. & MOURA LIMA, M.

1973 — An intensive study of the causes for the failure of residual DDT Spraying to interrupt the transmission of malaria in Atalaya and Falla, two villages on the coastal plain of El Salvador, Central America. **Revta. bras. Malar. Doenç. Trop.**, 25(1-4): 5-293.

SCHOOF, H. F.

1970 — Physiological resistance and development of resistance in Field populations. **Misc. Pub. Ent. Soc. Amer.**, 7: 45-61.

SHANNON, R. C.

1933 — Anophelines of the Amazon Valley. **Proc. Ent. Soc. Wash.**, 35(7): 121-143.

WHO (World Health Organization)

1975 — Manual on practical entomology in malaria. Part II. **WHO offset publication**, 13: 1-186.

(Aceito para publicação em 18/08/78)